

## II. 分担研究報告 3

有害化学物質摂取量推定に不可欠な分析法開発に関する研究

片岡洋平

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価と  
その手法開発に関する研究

研究分担報告書

有害化学物質摂取量推定に不可欠な分析法開発に関する研究

研究代表者 渡邊敬浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部第三室長  
研究分担者 片岡洋平 国立医薬品食品衛生研究所食品部主任研究官

研究要旨

化学形態別にヒ素化合物の摂取量を推定するために必要な形態別分析法を検討した。

検討 1) 摂取量推定に使用可能なヒ素の化学形態別分析法の開発

試料から 8 種類のヒ素化合物を抽出する方法を検討し、昨年度開発した選択性の高い測定法と組み合わせて、ヒ素の形態別分析法を開発した。開発した分析法の性能をトータルダイエット試料の模擬試料(1~14 群)を用いて評価した結果、有機ヒ素化合物については標準物質がない未知のヒ素化合物に由来すると考えられる信号が多数検出されたために正確な定量が困難、または不可能であった。一方、無機ヒ素についても 3 価と 5 価の変換が動的に起こり、それぞれの価数の無機ヒ素を個別に定量することは困難であった。しかし、3 価と 5 価のヒ素の量の和を真値として試料に添加し、得られた 3 価と 5 価のヒ素の分析値の和との比較により推定した真度は 91~108%であったことから、開発した分析法には総無機ヒ素量を定量するには十分な性能があると評価した。

検討 2) LC-MS/MS を用いた有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

検出にタンデム型質量分析計(MS/MS)を用い選択性を確保することで、HPLC により各有機ヒ素化合物が完全には分離されなくても定量可能な分析法の開発を目的とし、LC-MS/MS の測定条件について基礎的な検討を行った。MS/MS 条件を検討し、モニターイオンを設定した。HPLC 条件の検討では、イオン交換カラムが 6 種の有機ヒ素化合物の分析に最適であることを確認した。また、HPLC の移動相の塩濃度を至適化した。

研究協力者 渡邊敬浩 国立医薬品食品衛生研究所  
研究協力者 赤木浩一 福岡市保健環境研究所

## A. 研究目的

食品に含まれる特定の有害物質を摂取することによる健康危害リスクへの影響が評価され、その評価結果に基づき日常的に食事の安全性を確保することが健康の維持に不可欠である。ヒ素は食品に含まれ、日常的に摂取される可能性の高い有害物質の一つに挙げられる。食品となる生物を含む環境中には、価数が3価または5価の無機ヒ素、メチル基を官能基として有する複数のヒ素化合物やアルセノ糖のような有機ヒ素化合物の存在が知られている。化学形態によってヒ素の生体内動態や毒性は異なり、一般に有機ヒ素化合物はヒトに対して無毒または低毒性であるが、無機ヒ素は有毒であると考えられている。したがって、どのような形態のヒ素化合物がどのような食品にどのくらいの量含まれ、日常的な食事を通じて摂取されているかを知ることは重要であるといえる。

本研究班渡邊分担課題の成果として、日本人は総ヒ素(無機ヒ素と有機ヒ素化合物の合計量)の約80%を海水産物から摂取することが示唆されている。また米は、ヒ素の主要摂取源となる農産品である。しかし、それらの食品群から摂取される総ヒ素に占める無機ヒ素と有機ヒ素化合物の割合は不明である。上記の通り、ヒ素を摂取することによるヒトの健康危害リスクを精密に評価するためには、総ヒ素摂取量に加え、化学形態別にヒ素の摂取量を知ることが重要である。ヒ素の摂取量は分析により

試料の濃度が明らかになって初めて推定可能になる。これまでも総ヒ素摂取量が推定されてきたが、これは無機ヒ素と有機ヒ素化合物の形態を区別せずに分析することが比較的容易であることが理由である。

本研究では、化学形態別のヒ素化合物摂取量推定を可能とする、科学的に裏付けされた分析結果を得るための分析法の開発を進めている。そのための研究として、今年度は下記の2つの検討を実施した。

### 検討1) 摂取量推定に使用可能なヒ素の化学形態別分析法の開発

昨年度までに、化学形態別にヒ素化合物を測定するための、基礎的な測定法の検討を終了した。本年度は、化学形態の異なるヒ素化合物を試料から抽出する方法を検討し、昨年度に開発したHPLCとICP-MSを用いた測定法と組み合わせ、ヒ素の形態別分析法(HPLC-ICP-MS法)を開発した。また、トータルダイエット(TD)試料のモデル試料を用い、開発した分析法の性能を評価したので報告する。

### 検討2) LC-MS/MSを用いた有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

検討1)で開発したHPLC-ICP-MS法の検出器に用いているICP-MSでは、ヒ素の質量数75を形態の異なるヒ素化合物の全てに共通して観測するため、検出時には各ヒ素化合物が十分に分離していることが重要である。しかし、複数の有機ヒ素化合物及

び3価と5価の無機ヒ素の全てを互いの測定に影響のないよう、完全に分離することは難しい。また、HPLC-ICP-MS法では、各ヒ素化合物の分離に高濃度のイオンペア試薬を用いており、そのことを原因とする機器の汚染や感度低下には細心の注意を払わなければならない。

本検討では、イオンペア試薬を用いず、各ヒ素化合物の完全分離を必要としない分析法の開発を目的として、LC-MS/MSを用いる方法を検討したので報告する。なお、検討は福岡市保健環境研究所で実施した。

## B. 研究方法

### 検討 1) 摂取量推定に使用可能なヒ素の化学形態別分析法の開発

#### 分析対象化合物

標準品が入手可能な下記の計8種類とした。

- ・無機ヒ素①亜ヒ酸:As(III)、②ヒ酸:As(V)
- ・有機ヒ素③モノメチルアルソン酸(MMA)、④ジメチルアルシン酸(カコジル酸)(DMA)、⑤トリメチルアルシンオキシド(TMAO)、⑥アルセノベタイン(AsB)、⑦アルセノコリン(AsC)、⑧テトラメチルアルソニウム(TeMA)

#### 試料

摂取量推定を目的とした分析に使用する分析法の性能を評価するためのモデル試料 Sample for Evaluation of Methods Performance(以下、SEMP)を用いた。

#### 試薬等

硝酸 1.42(超微量分析用)、25%テトラメチルアンモニウムヒドロキシド(以下、TMAH)(精密分析用)、1-ブタンスルホン酸ナトリウム、マロン酸(特級)、メタノール(液体クロマトグラフィー用)、メチルオレンジ(特級)、25%アンモニア水(有害金属測定用)は和光純薬社製のものを用いた。

水:メルク社製装置(Element A10)により製造した超純水(比抵抗 > 18.2MΩ・cm、TOC < 3 ppb)を用いた。

標準品:下記の8種類を使用した。

亜ヒ酸 As(III):ひ素標準液(As 100)(関東化学社製)

ヒ酸 As(V):ひ酸[As(V)]水溶液(NMIJ CRM 7912-a)

アルセノベタイン水溶液(NMIJ CRM 7901-a)

ジメチルアルシン酸水溶液(NMIJ CRM 7913-a)

モノメチルアルソン酸、アルセノコリンブロマイド、トリメチルアルシンオキシド、ヨウ化テトラメチルアルソニウム(トリケミカル研究所製)

標準原液:メチルアルソン酸、アルセノコリン、トリメチルアルシンオキシド、テトラメチルアルソン酸については各1000 mg/Lになるように、それぞれ下記のとおり標準原液を調製した。

・メチルアルソン酸標準品 50 mg を正確に量りとり、水で 50 mL に定容した。

・アルセノコリンブロマイド標準品 74.2 mg を正確に量りとり、水で 50 mL に定容

した。

・トリメチルアルシンオキシド標準品 50.0 mg を正確に量りとり、水で 50 mL に定容した。

・ヨウ化テトラメチルアルソニウム標準品 97.0 mg を正確に量りとり、水で 50 mL に定容した。

上記以外のヒ素化合物については、購入した水溶液を標準原液として用いた。

0.15 mol/L 硝酸溶液：硝酸 4.8 mL を量りとり、水で 500 mL に定容した。

メチルオレンジ溶液：メチルオレンジ 0.1 g を量りとり、水で 100 mL に定容後、孔径 0.45  $\mu\text{m}$  の PTFE フィルター(メルクミリポア社製)でろ過した。

5% アンモニア水：25%アンモニア水 10 mL を水で 50 mL に定容した。

HPLC 用移動相：25% TMAH 0.3645 g、1-ブタンスルホン酸ナトリウム 1.922 g、マロン酸 0.416 g、メタノール 0.5 mL を量りとり、水を加え、5%アンモニア水で pH3.0 に調整した後、1 L に定容した。なお、この溶液は用時調製した。

## 分析機器

HPLC：島津製作所社製 Prominence を用いた。

ICP-MS：サーモフィッシャーサイエンティフィック社製 X-Series2 を用いた。

## HPLC-ICP-MS 測定条件

### HPLC 条件

カラム：L-column2 (内径 4.6 mm 長さ 25

cm 粒子径 3  $\mu\text{m}$ ) (化学物質研究評価機構社製)

移動相：0.05 (v/v%) メタノール、12 mM 1-ブタンスルホン酸ナトリウム、4 mM マロン酸、1 mM TMAH 溶液(pH3.0)

流速：0.75 mL/min

カラム温度：25°C

オートサンプラー温度：4°C

注入量：20  $\mu\text{L}$

測定時間：15 min

### ICP-MS 条件

測定モード：CCT モード

(コリジョンモード)

コリジョンガス：He

測定ポイント時間：100 ms

測定質量数：75

その他の条件は、機器の自動チューニングプログラムによって設定した。

### 測定溶液の調製

試料からの測定溶液の調製方法を以下に示した。また、操作のフローチャートを図 1 に示した。

試料 2.0 g を量り取り、0.15 mol/L 硝酸溶液 5 mL を加え、100°C で 2 時間静置した。なお、30 分おきによく振り混ぜた。2600 g で 10 分間遠心分離後、水層を 20 mL メスフラスコに移した。残渣に水 5 mL を加え、手でよく振とうした後、同様に遠心分離後、水層を上記のメスフラスコに合わせた。同様の操作を計 2 回行った。メスフラスコにメチルオレンジ溶液を 100  $\mu\text{L}$  加

え、5%アンモニア水で約 pH3.0 (溶液の色が薄い赤色～オレンジ)に調整した後、20 mL に定容した。この溶液を孔径 0.45 μm の PTFE フィルターでろ過し、測定溶液とした。

### 検量線の作成

各標準原液を適宜量とり、0.15 mol/L 硝酸溶液を 5 mL 加えた。メチルオレンジ溶液を 100 μL 加え、5%アンモニア水で約 pH3.0(溶液の色が薄い赤色～オレンジ)に調整した後、定容した溶液を孔径 0.45 μm の PTFE フィルターでろ過し、検量線用測定溶液とした。各検量線用溶液 20 μL を HPLC-ICP-MS に注入し、得られたピーク面積値の濃度に対する一次回帰式を最小二乗法により求め、検量線を作成した。検量線の作成に用いた濃度を表 1 に示した。

### 測定及び分析対象化合物濃度の算出

測定溶液を HPLC-ICP-MS に注入し、測定値を得た。次いで、作成した検量線の各変数を用いて下式にしたがい、測定溶液中の各分析対象化合物濃度を逆推定した。

測定溶液中の各分析対象化合物濃度 (mg/kg)

$$= \{(\text{Signal}_{\text{analyte}} - \text{intercept}) / \text{slope}\} / 100$$

Signal<sub>analyte</sub>: 各分析対象化合物の測定値

Intercept: 検量線の切片

Slope: 検量線の傾き

### 分析法の性能を評価するための実験計画

分析法の性能を評価し、その性能から分析法の妥当性を判断するために、SEMP の各分析対象化合物濃度を考慮して調製した添加試料を 5 併行で分析し、分析法の真度と併行精度を推定した。添加濃度を表 2 に示した。

SEMP 2.0 g に、添加用の各分析対象化合物標準溶液を正確に 0.5 mL 加え、よく混合したものを添加試料とした。

添加試料から得られた分析値から、対応する非添加の SEMP から得られた全分析値の平均値を差し引いた後、真度と併行精度を推定した。

### 検討 2) LC-MS/MS を用いた有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

#### 分析対象化合物

下記の計 6 種類の有機ヒ素化合物を分析対象とした。

有機ヒ素①MMA、②DMA、③TMAO、④AsB、⑤AsC、⑥TeMA

#### 試薬等

硝酸(比重:1.38、濃度:60～61%)は関東化学社製を用いた。硝酸アンモニウムは林純薬社製を用いた。

水: ADVANTEC 社製装置(ULTRAPURE WATER SYSTEM)により製造した超純水(比抵抗 > 18.2MΩ・cm、TOC < 1 ppb)を用いた。

標準品: 下記の 6 種類を使用した。

MMA、DMA、AsB、AsC は、和光純薬工

業社製、TMAO、TeMA はトリケミカル研究所社製を用いた。

HPLC用移動相:水 600mLに硝酸0.50g, 硝酸アンモニウム 0.48g を溶解させ、水で 1L とした。

### 分析機器

HPLC: アジレントテクノロジー社製 1100 シリーズを用いた。

LC-MS/MS: ABSCIEX 社製 API4000 を用いた。

### LC-MS/MS 測定条件

#### HPLC 条件

カラム: NN-414 (内径 2 mm 長さ 15 cm) (Shodex 社製)

移動相: 5mM 硝酸・6mM 硝酸アンモニウム

流速: 0.1 mL/min (isocratic)

カラム温度: 40°C

オートサンプラー温度: 4°C

注入量: 1 µL

測定時間: 30 min

#### MS/MS 条件

イオン化法: ESI

イオン化モード: ポジティブモード

イオン源のパラメータを表 3、各分析対象化合物の測定条件を表 4 に示した。

### 測定溶液の調製

各有機ヒ素化合物の標準品を水で希釈し、1 mg/L とした標準溶液を測定溶液と

した。

### **C.D. 研究結果及び考察**

#### 検討 1) 摂取量推定に使用可能なヒ素の化学形態別分析法の開発

##### **C.D. 1-1 分析法の開発時に観察された現象**

摂取量推定が目的の場合、人が摂取する多様な食品を分析する必要がある。本研究の目的は、TD 試料を分析することであるが、TD 試料の分析が可能か SEMP を用いて検証する過程において、食品群に応じて特異な以下の現象が観察された。

##### 現象 1) 無機ヒ素の価数の変換

SEMP 中の As(V)が As(III)へ、または As(III)が As(V)へと変換された。例として、As(V)を添加した 11 群試料から得られたクロマトグラムを図 1 に示した。変換された As(III)の量を As(III)標準溶液の測定結果を基に検量し、添加した As(V)の量と比較すると良く一致した。

##### 現象 2) 未知の有機ヒ素化合物に由来すると考えられるピークの検出

SEMP の 10 群、11 群中の MMA 及び DMA からは未知のピークが検出された。例として、MMA もしくは DMA を添加した 10 群試料から得られたクロマトグラムを図 2 に示した。多原子干渉が起こらない条件で測定している ICP-MS の選択性を考慮すれば、これらのピークは未知の有機ヒ素化合物に由来すると推測される。しかし、標準品が

ないため同定することはできなかった。

### 現象 3) 未知のヒ素化合物に由来すると考えられるピークの検出

SEMP の 8 群からは、8 種の標準品以外のヒ素化合物に由来すると考えられる多数のピークが検出された。これらも標準品がないため同定することはできなかった。例として 8 群試料から得られたクロマトグラムを図 3 に示した。

以上の現象 1)~3)を踏まえ、以下のように判断し結果を取り扱うことにした。

1) As(III)と As(V)を区別せずそれらの和の量として定量することにした。

2) 有機ヒ素化合物については、現時点では全てのピークを同定することができず、また定量値の品質も十分に保証できないと判断し、今年度の検討としては無機ヒ素のみを分析対象とし、有機ヒ素化合物を分析対象としないことにした。

上記の判断に基づき、これより先には、無機ヒ素の As(III)と As(V)の検討結果についてのみ述べる。

### **C.D. 1-2 分析法の真度と併行精度の推定**

SEMP の 1~14 群試料を 5 点併行で分析した結果から分析法の真度と併行精度を推定した。推定した真度と併行精度を表 5 に示した。

全群の As(III)並びに As(V)の組み合わせを通じて、併行精度は 0.4~18%(RSD%)、As(III)分析時の真度は 42~186%、As(V)分

析時の真度は 14~163%と推定された。

また全群を通じ、添加した As(III)と As(V)の量の和を真値とし、これと As(III)と As(V)分析値の和との比較から推定した真度は 91~108%であった(表 6)。

以上の結果から、開発した分析法の性能は、As(III)と As(V)別の定量を目的とすると TD 試料の全群を通じて十分でないと評価した。しかし、As(III)と As(V)の量の和を無機ヒ素量として定量することが可能な分析法であると判断した。

### 検討 2) LC-MS/MS を用いた有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

#### **C.D. 2-1 MS/MS 条件の検討**

各有機ヒ素化合物の標準溶液を直接 MS/MS に注入し、測定条件を検討した。イオン化法は ESI、測定モードはポジティブモードを選択した。SCAN 測定( $m/z$  50-500)により得られたマススペクトルに基づきプレカーサーイオンを選択し、測定機器の感度が最大になるように、オリフィスプレートの電圧(DP)を最適化した。また、MRM モードの測定でのモニターイオンは、コリジョンエネルギーの電圧(CE)を変化させ高い感度が得られたプロダクトイオンのうち最も高い S/N が得られたプロダクトイオンから 2 つ選択し、それぞれ定量イオンと定性イオンとした。設定したモニターイオンとイオン化条件を表 4 に示した。

#### **C.D. 2-2 HPLC カラムの検討**



LC-MS/MS では、質量数による選択が可能であるため、各ヒ素化合物を完全に分離させる必然性は小さくなる。しかし、機器の汚染等を避けるために検出器への導入を避けたい試料に由来する塩などの共存物質と分離する程度には、分析対象とする有機ヒ素化合物がカラムに保持される必要がある。そこで、数種類の HPLC カラムを検討し、有機ヒ素化合物の HPLC カラムへの保持や分離の程度を検討した。当初、HPLC カラムには ODS 系カラムやポリマー系逆相カラムを、移動相にはこれらカラムを用いた HPLC に一般的に使用される酢酸アンモニウム、ギ酸・メタノール(もしくはアセトニトリル)混液を用いて検討した。しかし ODS 系カラムへの保持は確認されず、ポリマー系逆相カラムでは弱い保持が確認されただけであった。その他、p-HILIC カラムを用いた検討も行ったが、全ての有機ヒ素化合物を保持させることはできなかった。そこで、4 種の有機ヒ素化合物を保持することが報告されているポリマー系のイオン交換カラムである HAMILTON 社製 PRP-200 並びに SHODEX 社製の NN-414 を選択し、硝酸系の移動相を用いて検討した結果、各有機ヒ素化合物が各カラムに適切に保持されることを確認した。

以上の結果から、入手のし易さなども考慮し、NN-414 を HPLC 用カラムとして用いることにした。

### C.D. 2-3 HPLC 条件の最適化

選択した HPLC カラムでの有機ヒ素化合物

物の分離を最適化するため、移動相の塩濃度(硝酸アンモニウム濃度)を検討した。移動相に 5 mM 硝酸、0~20mM 硝酸アンモニウムを用いた場合の、各有機ヒ素化合物の HPLC カラムへの保持時間を調べた。結果を図 4 に示した。硝酸アンモニウム濃度を高くすると有機ヒ素化合物の保持が弱くなる傾向が認められ、この傾向は有機ヒ素化合物の種類に依存しないことが明らかとなった。一方、硝酸アンモニウム濃度によらず TMAO、TeMA、AsC を完全に分離することはできなかった。これらの結果に基づき、移動相の組成を有機ヒ素化合物の分離効率が最大であると考えられた 5 mM 硝酸、6 mM 硝酸アンモニウムに設定した。設定した HPLC 条件下で得られた有機ヒ素化合物のクロマトグラムを図 5 に示した。

## E. 結論

### 研究 1: 摂取量推定に使用可能なヒ素の化学形態別分析法の開発

昨年度に検討したヒ素の化学形態別の測定法に、各種ヒ素化合物の試料からの抽出法を組み合わせ、ヒ素の化学形態別分析法を構築した。また、その性能を添加試料の分析結果から評価した。その際、未知の有機ヒ素化合物が検出されたこと等により、現在の分析法では、有機ヒ素化合物の正確な定量は困難であることが判明した。無機ヒ素の分析については、価数の変換が生じたことを原因とし、3 価と 5 価のヒ素を独立して定量するには十分な性能を確認できなかったが、3 価と 5 価のヒ素の量の和を

無機ヒ素量とすれば、十分な性能で分析できることを確認した。今後は未知の有機ヒ素化合物の同定と分別定量に焦点を合わせ、摂取量推定を目的としたより精密な化学形態別ヒ素化合物の分析法の開発検討を継続する。

### 3. その他

#### 検討 2) LC-MS/MS を用いた有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

6 種の有機ヒ素化合物を分析するための LC-MS/MS 条件を検討した。その結果、HPLC 条件と MS 条件が最適化され、各有機ヒ素化合物が適切に測定できることを確認した。今後、MS/MS だけでなく TOF-MS を用いた測定条件の検討、標準品がない有機ヒ素化合物の同定等を検討する予定である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

片岡洋平、渡邊敬浩、五十嵐敦子、手島玲子「無機ヒ素の国民平均摂取量の推定」第 108 回日本食品衛生学会学術講演会(2014)

赤木浩一、脇山ひとみ、片岡洋平、沖田智樹、川崎恵、中山恵利、手島玲子、渡邊敬浩「LC-MS/MS によるヒ素の形態別分析」第 51 回全国衛生化学技術協議会年会(2014)

表1 検量線の設計

| 分析対象<br>化合物 | 濃度(ng/mL) |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |
|-------------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
|             | Std 1     | Std 2 | Std 3 | Std 4 | Std 5 | Std 6 | Std 7 | Std 8 | Std 9 | Std 10 | Std 11 | Std 12 | Std 13 | Std 14 |
| As(III)     | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |
| As(V)       | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |
| MMA         | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | 25    | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |
| DMA         | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | 25    | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |
| AsB         | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | 25    | 50    | 75    | 100    | 250    | 500    | 750    | 1000   |
| TMAO        | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |
| TeMA        | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |
| AsC         | 0.25      | 0.5   | 1     | 2.5   | 5     | 10    | 25    | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |

表2 SEMP への添加濃度

| 分析対象<br>化合物 | 濃度(mg/kg) |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-------------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|             | 1群        | 2群   | 3群   | 4群   | 5群   | 6群   | 7群   | 8群   | 9群   | 10群  | 11群  | 12群  | 13群  | 14群  |
| As(V)       | 0.01      | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| As(III)     | 0.1       | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| MMA         | 0.01      | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.1  | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| DMA         | 0.05      | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.1  | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| AsB         | 0.01      | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 5    | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| TMAO        | 0.01      | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| TeMA        | 0.01      | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| AsC         | 0.01      | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.1  | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |

表3 イオン源のパラメータ

| <b>CUR</b> | <b>GS1</b> | <b>GS2</b> | <b>IS</b> | <b>TEM</b> | <b>CAD</b> | CUR: Curtain Gas     | GS1: Ion Source Gas1  |
|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|----------------------|-----------------------|
| (psi)      | (psi)      | (psi)      | (V)       | (°C)       | (-)        | GS2: Ion Source Gas2 | IS: Ion Spray Voltage |
| 10         | 40         | 70         | 5500      | 700        | 8          | TEM: Temperature     | CAD: Collision Gas    |

表4 分析対象化合物の測定条件

| <b>分析対象<br/>化合物</b> | <b>Q1<br/>(m/z)</b> | <b>Q3<br/>(m/z)</b> | <b>DP<br/>(V)</b> | <b>CE<br/>(eV)</b> |    |    |
|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|--------------------|----|----|
| MMA                 | 141.1               | 90.9                | 92.8              | 46                 | 31 | 37 |
| DMA                 | 139.1               | 90.8                | 120.9             | 46                 | 19 | 27 |
| TMAO                | 137.1               | 121.9               | 107.1             | 66                 | 25 | 33 |
| TeMA                | 135.1               | 119.8               | 105               | 61                 | 25 | 31 |
| AsB                 | 179.2               | 120                 | 105.1             | 66                 | 29 | 37 |
| AsC                 | 165.2               | 120.8               | 105.1             | 66                 | 25 | 31 |

表 5 HPLC-ICP-MS 法の併行精度と真度の推定値

| SEMP試料<br>(群) | 無機ヒ素    | 添加濃度<br>(mg/kg) | 定量値(mg/kg) |        |        |        |        | 平均値<br>(mg/kg) | 併行精度<br>(RSD%) | 真度<br>(%) |
|---------------|---------|-----------------|------------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|-----------|
|               |         |                 | n=1        | n=2    | n=3    | n=4    | n=5    |                |                |           |
| 1             | As(V)   | 0               | 0.0036     | 0.0039 | 0.0038 | 0.0042 | 0.0041 | 0.0039         | 5.9            | 117       |
|               |         | 0.01            | 0.0115     | 0.0118 | 0.0123 | 0.0116 | 0.0113 | 0.0117         | 3.2            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0458     | 0.0460 | 0.0477 | 0.0463 | 0.0454 | 0.0462         | 1.9            | 99        |
|               |         | 0.01            | 0.1001     | 0.0959 | 0.0994 | 0.1001 | 0.0988 | 0.0988         | 1.8            |           |
| 2             | As(V)   | 0               | 0.0019     | 0.0016 | 0.0019 | 0.0019 | 0.0017 | 0.0018         | 8.2            | 103       |
|               |         | 0.01            | 0.0104     | 0.0103 | 0.0104 | 0.0099 | 0.0102 | 0.0103         | 1.9            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0010     | 0.0010 | 0.0010 | 0.0011 | 0.0011 | 0.0010         | 4.6            | 104       |
|               |         | 0.01            | 0.0103     | 0.0104 | 0.0104 | 0.0104 | 0.0104 | 0.0104         | 0.4            |           |
| 3             | As(V)   | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 104       |
|               |         | 0.01            | 0.0102     | 0.0103 | 0.0102 | 0.0107 | 0.0104 | 0.0104         | 1.8            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 96        |
|               |         | 0.01            | 0.0093     | 0.0096 | 0.0097 | 0.0097 | 0.0095 | 0.0096         | 1.7            |           |
| 4             | As(V)   | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 131       |
|               |         | 0.01            | 0.0132     | 0.0129 | 0.0133 | 0.0131 | 0.0128 | 0.0131         | 1.7            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 62        |
|               |         | 0.01            | 0.0062     | 0.0060 | 0.0063 | 0.0062 | 0.0064 | 0.0062         | 2.5            |           |
| 5             | As(V)   | 0               | 0.0007     | 0.0006 | 0.0006 | 0.0006 | 0.0007 | 0.0006         | 6.9            | 78        |
|               |         | 0.01            | 0.0079     | 0.0074 | 0.0079 | 0.0079 | 0.0080 | 0.0078         | 3.2            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 123       |
|               |         | 0.01            | 0.0123     | 0.0122 | 0.0122 | 0.0123 | 0.0123 | 0.0123         | 0.4            |           |
| 6             | As(V)   | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 94        |
|               |         | 0.01            | 0.0084     | 0.0106 | 0.0084 | 0.0102 | 0.0092 | 0.0094         | 11             |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 112       |
|               |         | 0.01            | 0.0121     | 0.0103 | 0.0118 | 0.0103 | 0.0114 | 0.0112         | 7.6            |           |
| 7             | As(V)   | 0               | 0.0004     | 0.0004 | 0.0004 | 0.0004 | 0.0004 | 0.0004         | 4              | 106       |
|               |         | 0.01            | 0.0108     | 0.0106 | 0.0102 | 0.0107 | 0.0105 | 0.0106         | 2.2            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 93        |
|               |         | 0.01            | 0.0092     | 0.0091 | 0.0094 | 0.0093 | 0.0092 | 0.0093         | 1.3            |           |
| 8             | As(V)   | 0               | 0.0004     | 0.0003 | 0.0003 | 0.0003 | 0.0004 | 0.0003         | 10             | 93        |
|               |         | 0.01            | 0.0100     | 0.0094 | 0.0091 | 0.0087 | 0.0095 | 0.0093         | 5.1            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 106       |
|               |         | 0.01            | 0.0101     | 0.0106 | 0.0109 | 0.0110 | 0.0105 | 0.0106         | 3.5            |           |
| 9             | As(V)   | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 117       |
|               |         | 0.01            | 0.0111     | 0.0116 | 0.0120 | 0.0118 | 0.0117 | 0.0117         | 3.1            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 85        |
|               |         | 0.01            | 0.0089     | 0.0086 | 0.0083 | 0.0084 | 0.0084 | 0.0085         | 2.6            |           |
| 10            | As(V)   | 0               | 0.0030     | 0.0032 | 0.0033 | 0.0030 | 0.0033 | 0.0032         | 4.5            | 14        |
|               |         | 0.01            | 0.0014     | 0.0011 | 0.0015 | 0.0014 | 0.0018 | 0.0014         | 18             |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0001     | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001         | 11             | 186       |
|               |         | 0.01            | 0.0184     | 0.0193 | 0.0186 | 0.0182 | 0.0183 | 0.0186         | 2.4            |           |
| 11            | As(V)   | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 25        |
|               |         | 0.01            | 0.0026     | 0.0022 | 0.0022 | 0.0025 | 0.0032 | 0.0025         | 15             |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 157       |
|               |         | 0.01            | 0.0159     | 0.0167 | 0.0151 | 0.0154 | 0.0153 | 0.0157         | 4.1            |           |
| 12            | As(V)   | 0               | 0.0015     | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015         | 1.8            | 163       |
|               |         | 0.01            | 0.0157     | 0.0157 | 0.0173 | 0.0166 | 0.0163 | 0.0163         | 4.3            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 42        |
|               |         | 0.01            | 0.0043     | 0.0044 | 0.0038 | 0.0039 | 0.0043 | 0.0042         | 6.6            |           |
| 13            | As(V)   | 0               | 0.0275     | 0.0269 | 0.0271 | 0.0282 | 0.0284 | 0.0276         | 2.4            | 59        |
|               |         | 0.01            | 0.0061     | 0.0061 | 0.0058 | 0.0053 | 0.0060 | 0.0059         | 5.8            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0052     | 0.0052 | 0.0054 | 0.0052 | 0.0053 | 0.0052         | 1.9            | 139       |
|               |         | 0.01            | 0.0141     | 0.0139 | 0.0139 | 0.0137 | 0.0138 | 0.0139         | 1.0            |           |
| 14            | As(V)   | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 124       |
|               |         | 0.01            | 0.0124     | 0.0125 | 0.0128 | 0.0121 | 0.0122 | 0.0124         | 2.3            |           |
|               | As(III) | 0               | 0.0000     | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000         | —              | 76        |
|               |         | 0.01            | 0.0076     | 0.0079 | 0.0076 | 0.0072 | 0.0078 | 0.0076         | 3.6            |           |

添加試料の定量値は、非添加試料の全定量値の平均値を差し引いた値として示した。

表 6 As(III)と As(V)の添加量の和を真値とした場合の As(III)と As(V)の分析値の和に対する真度の推定値

| 分析対象<br>化合物     | 真度(%) |     |     |    |     |     |    |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------------|-------|-----|-----|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|                 | 1群    | 2群  | 3群  | 4群 | 5群  | 6群  | 7群 | 8群  | 9群  | 10群 | 11群 | 12群 | 13群 | 14群 |
| As(III) + As(V) | 108   | 103 | 100 | 96 | 100 | 103 | 99 | 100 | 101 | 100 | 91  | 102 | 99  | 100 |

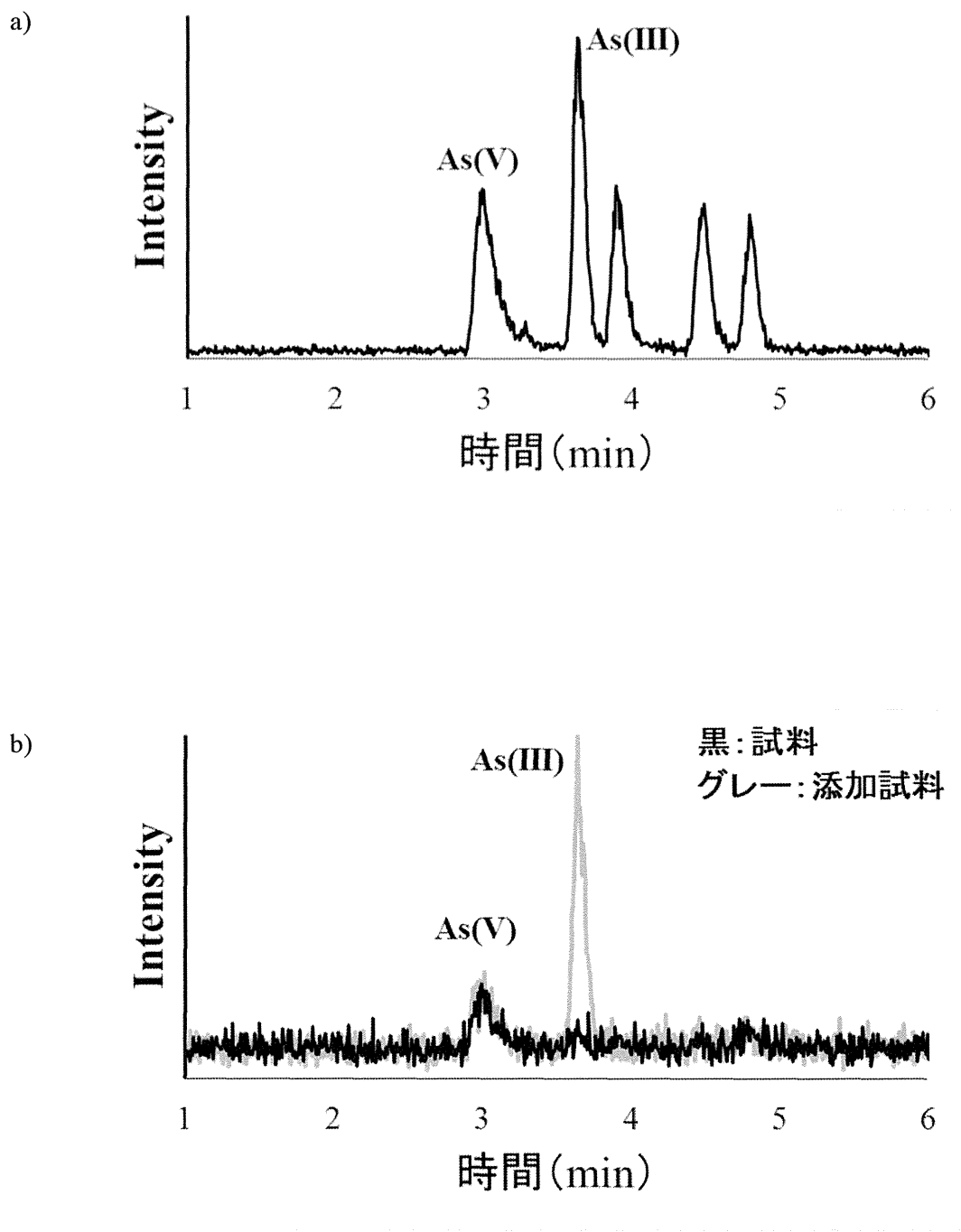
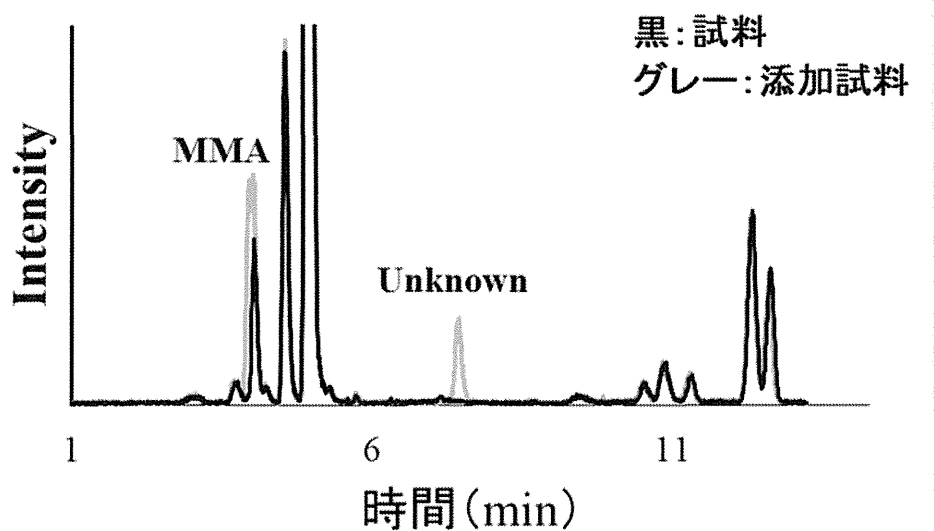


図1 11群添加試料のクロマトグラム例  
 a)標準溶液  
 b)測定溶液

a)



b)

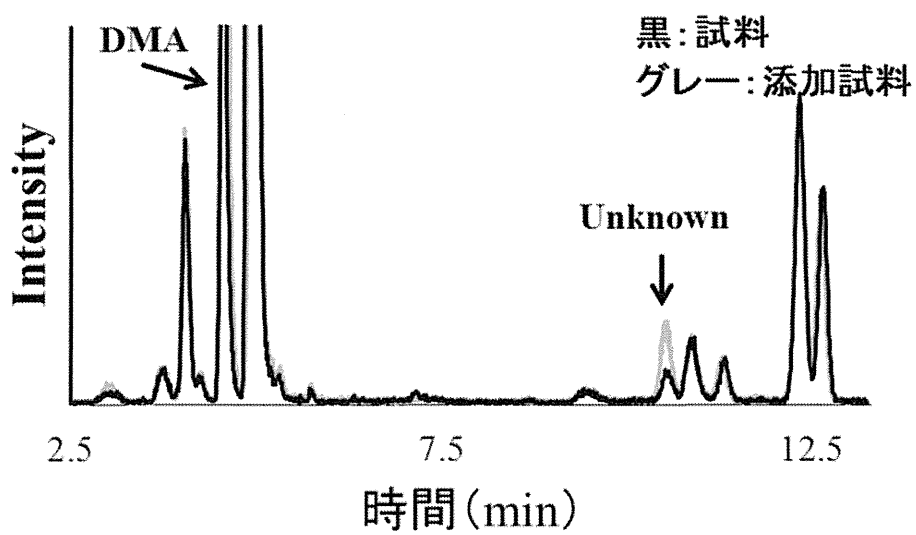


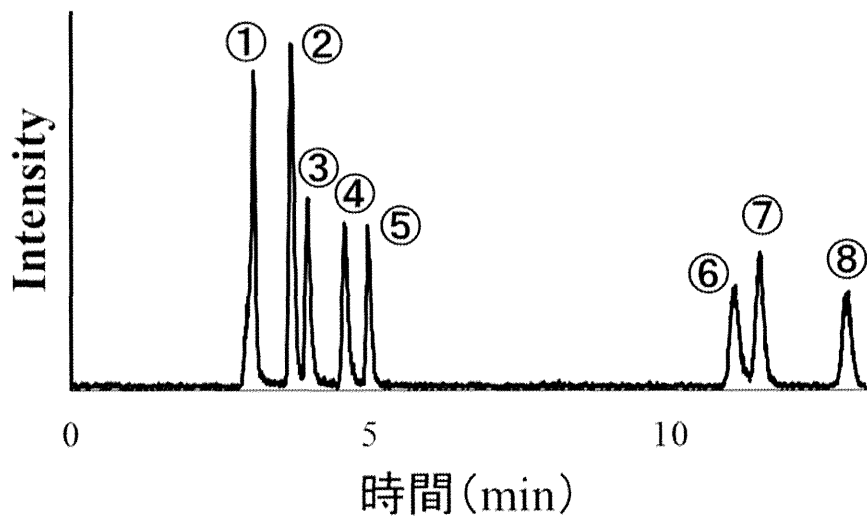
図2 10群添加試料のクロマトグラムの例

a) MMA 添加の場合

b) DMA 添加の場合



a)



b)

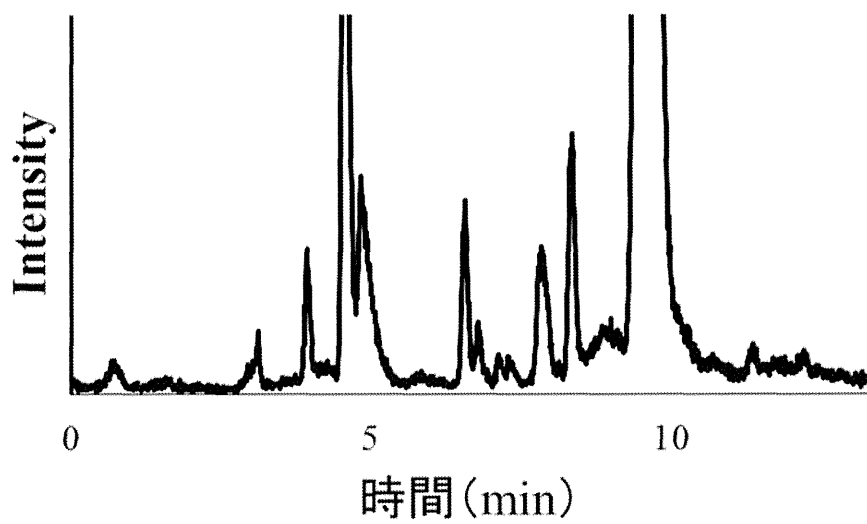


図3 8群試料のクロマトグラムの場合

a)標準溶液

①As(V) ②As(III) ③MMA ④DMA ⑤AsB ⑥TMAO ⑦TeMA ⑧AsC

b)測定溶液

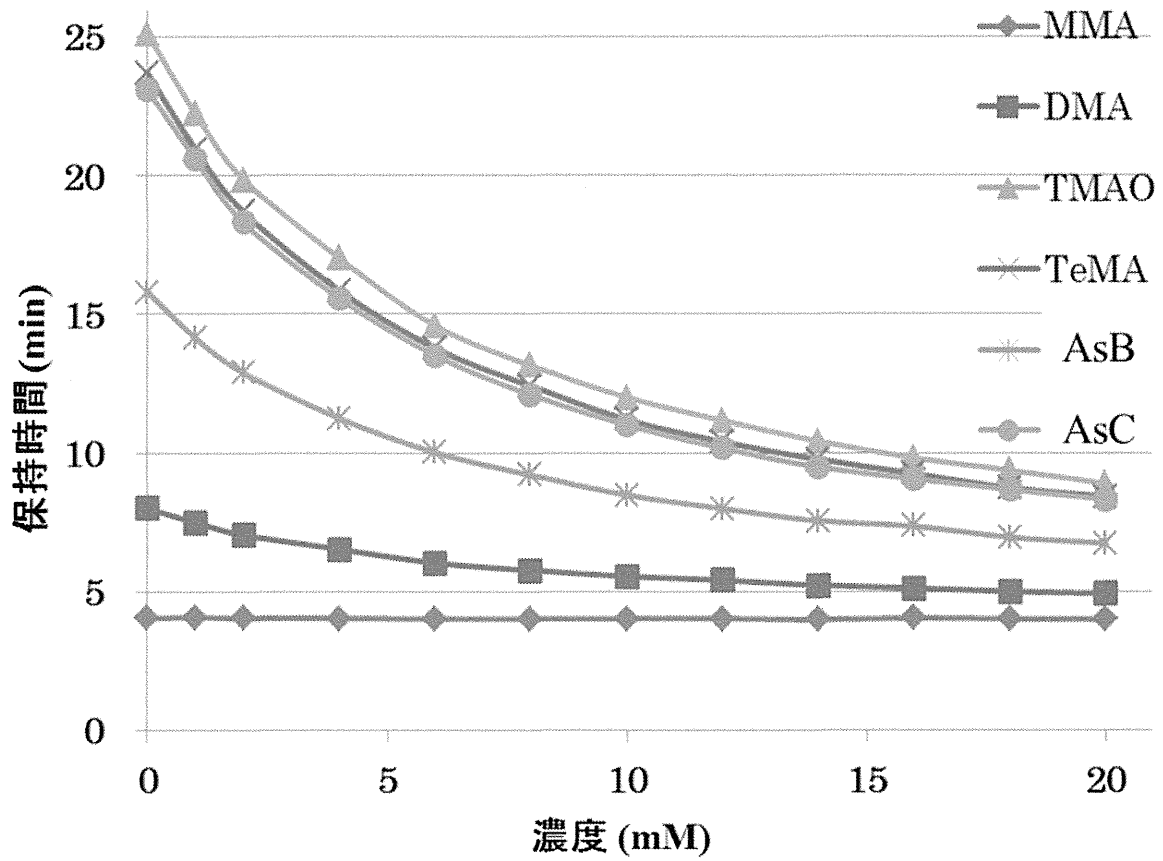


図4 移動相中の塩(硝酸アンモニウム)濃度による保持時間の変化

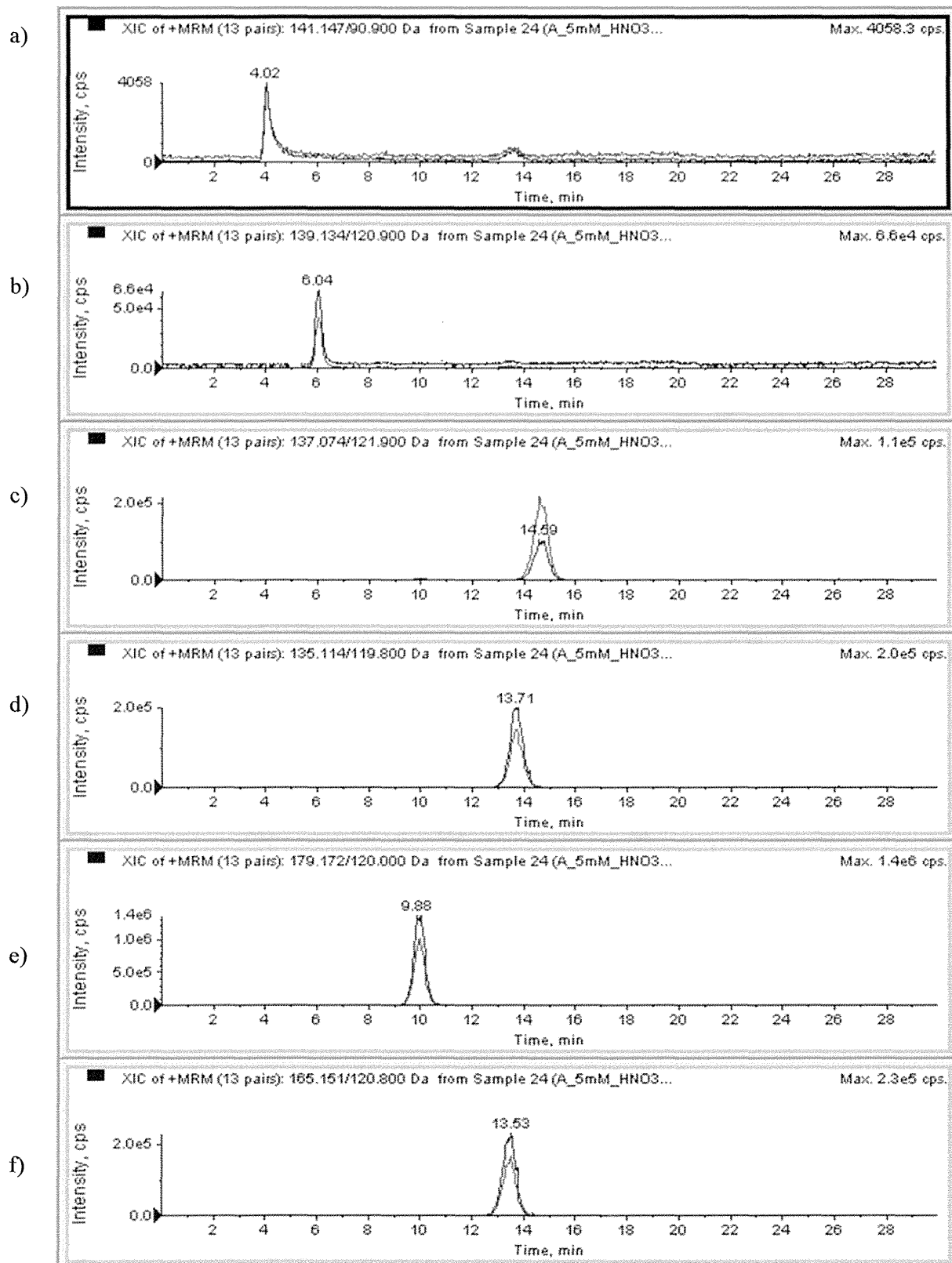


図5 有機ヒ素化合物のクロマトグラム(各有機ヒ素化合物の濃度：1  $\mu\text{g/mL}$ )

a)MMA b)DMA c)TMAO d)TeMA e)AsB f)AsC

## II. 分担研究報告 4

リスクを考慮した精密摂取量推定手法開発に関する研究

松田りえ子